

Sublancin 168

Figure 1

Lantibody Display Peptide

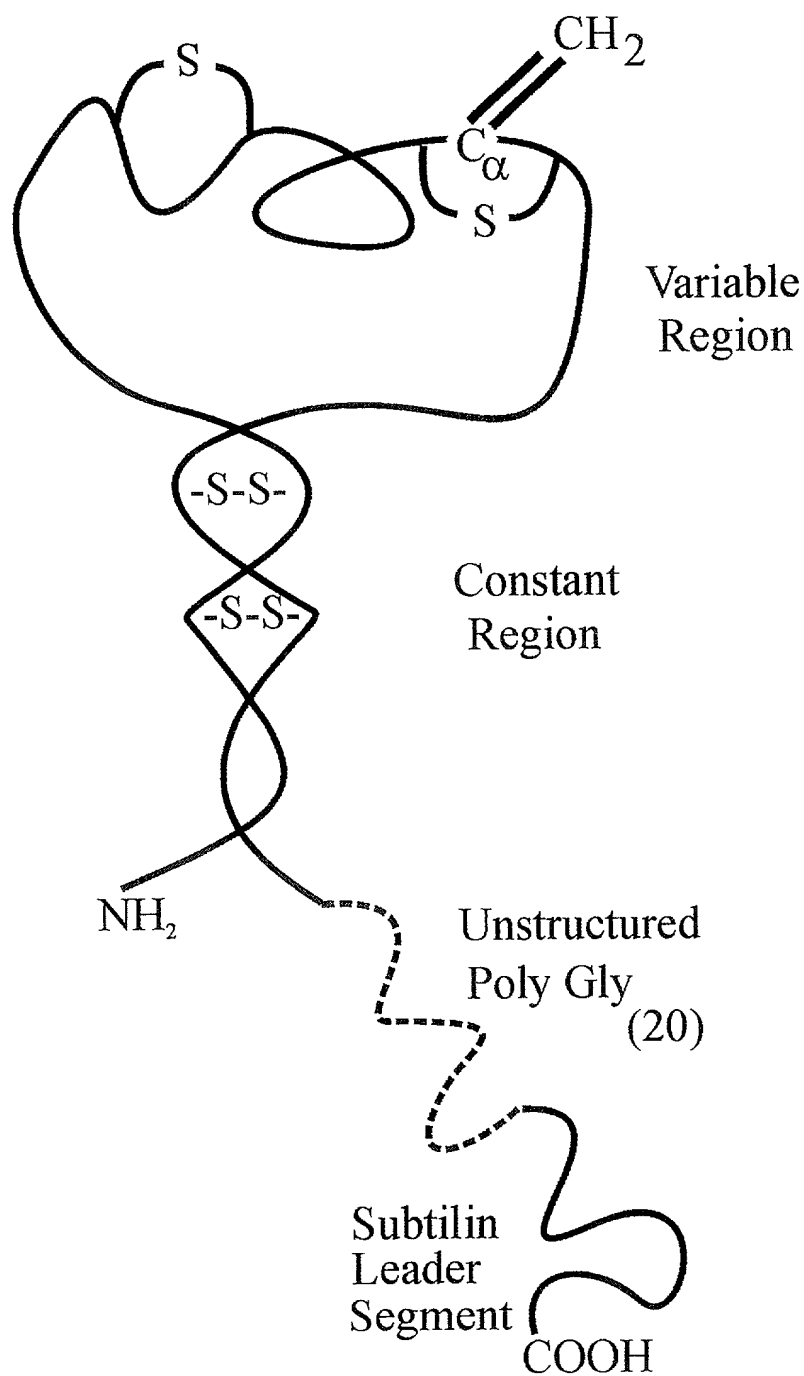


Figure 2

AGAAGTGTCTCAGTCACGTTATCGAATATTAGAGGATGATTAAATCAGGACTGAGTTATTGTTAGTGG
ATAATGAAAAGAGAAGGAACTCGGTTTTGTAATGGATGGGATTAGAAGTAAATACGGCTCTAAAGCGAT
LPHF1--->
TCTGAGAGCAGTTTCTTATACACCAGCAGGAACCTGCACTTCAACGAGCTGGATTAAACAGGTGGGCATAAG
AGTTAAGATAAAATTTAACTTATATAACACATCGCTTAAAGTTTTTTTTGTTTTAAAAACTTAAAAACAT
|-----> *volF* ----->
GGTAAATTTATATAAAAAACATAAGAAAAGAGTGATTAT ATGGAATATGTAGTTATGATAATCATTTTTATTA
GCACTTTTCTTTATTTTACTGTTTTCTTAAATACAGTTTATAGTTTTGATGAAAAATGCTTAGTCTTAA
AATTTGGTTTTATCTAAAAACAGAAAATCCAATTAATCAAATAGTTAGTATTAAAGAGTCAGACAAGTATGG
AGTTGCAGATAATATCGATTATAAAAATTGGTATGCCATATGCTCAACCAGATAGAATTGTTATTGAACT
<----- *volF* <-----
ACAAATAAGCGTTTTCTAGTTTTTTTTTAAATGGAGCTCAACAATTTATTCAAAAGTATAAAAGGGTTAGTG
--|
TT TGAACATAAAAAAGTACCTTCTTACAATAGAAGGTACTTTTTTGTATCTATAATTATTAATAATTTAC
CTAAATTTTTATCATTATTAATTCAAAATAAATCCATAATAGTCAATTTTATTTAGTGTATTACAACAA
<---LPHR1, (LPHF2, LPVF2--->)
TTCTGTTTATTGATAGGTAATAAAGTTTTTTTTTCTATGATTATGAACAAGTTTCCTTATAATTTTCAA
-35 -10
AAAAATAAAAAATATGTTTGAATTTAGATTTATCTTCCTTTATATTTAAAAAATGTAATCCGGATTGCAA
r.b.s. |-----> *sunA* leader region----->
ACAAATGGGGAGGTTTTACAA ATGGAAAAGCTATTTAAAGAAGTTAAACTAGAGGAACTCGAAAACCAA
<---LPHR2 <---LPVR2 NLPVF3----->
sunA mature region ----->
AAGGTAGT GGATTAGGAAAAGCTCAGTGTGCTGCGTTGTGGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGG
<----- *sunA* <----- *Pst* I |
TTGTGGTGGCGGAGCTGTTGCTTGTCAAAAC TATCGTCAATTCGTCAGA TAAACATTTGTAGAGGGAAT
LPVF4---> LPHF3--->
<---LPPMR2
|-----> *sunT* ----->
ATTTTAAATATTCCTCATATTTAAAGCGGGGATTGAAA TTGAATAAGAAAAAGAAATATGTTCACTACTA
AACAGTTTAAATAGTCATGATTGTGGACTAGCTTGTATCTCGTCAATTTTAAAGTTTCATAACCTTAACTA
TGGAATTGATTTCTTACTAGACCTAATTGGGGATAAGGAAGGCTATAGTTTAAAGAGACTTAATTGTTATT
TTTAAAGAAGATGGGGATAAAAACTAGGCCACTTGAATTGCAAGAAAATAAGACATTGGAAGCCCTAAAAAC
AAATAAGCTCCCTTGTATAGCTTTGTAGAGGGGAGGAATATGGACATTACATAACAATATACGAAAT
TAGAAATAACTATTTACTTGTAGTGATCCTGATAAAGACAAAATAACTAAAATAAAAAAAGAGGATTTT
GAAAGTAAATTCACAACTTTATATTAGAAATTGACAAAGAGTCAATTCCTGAAAAAGAAAAAGATCAAA
AAAAACATTCTTACTTTTTTAAGGACATACCTTTTAGAAATAAATATGATCGTTTTTGTGATTTTATTGAC
TTCCTTGTTCGTTAGGGTCTTGCTGTAGCTGGGTGTTTTATATAAAGTTTCTAGTTGACCT----->
<---LPHR3 & LPVR4 <-----> *sunT* ----->

Figure 3

EcoRI
 pTZ sequence <-----GAATTCCGGCTCTAAAGCGAT
 TCTGAGAGCAGTTTCTTATACACCAGCAGGAACTGCACTTCAACGAGCTGGATTAAACAGGTGGGCATAAG
 AGTTAAGATAAAATTTAAACTTATATAACACATCGCTTAAAGTTTTTTTGTCTTTAAAAACTTAAAAACAT
 GGTAAAATTATATAAAAAACATAAGAAAGAGTGATTATATGGAATATGTAGTTATGATAATCATTCTTATTA
 GCACTTTTCTTTATTTTCTACTGTTTTCTTAAATACACGTTATAGTTTTGATGAAAAATGCTTAGTCTTAA
 AATTTGGTTTATCTAAAAACAGAAATTCCTAATTAATCAAATAGTTAGTATTAAAGAGTCAGACAAGTATGG
 AGTTGCAGATAATATCGATTATAAAATTTGGTATGCCATATGCTCAACCAGATAGAATTGTTATTGAACT
 ACAAATAAGCGTTTTCTAGTTTTTTTAAATGGAGCTCAACAATTTATTCAAAGTATAAAAGGGTTAGTG
 TTTGAACATAAAAAAGTACCTTCTTACAATAGAAGGTACTTTTTTGTATCTATAATTATTAAAAATTTAC
 CTAAATTTTTATCATTATTAATTCAAAAATAATCCATAATAGTCAATTTTATTAGTGTATTACAACCAA
 Bam HI (~900 bp) Bam HI
 TTC GGATCC <----cat-----> GGATTCGTGTATTACAACCAATTC TGTATTATTGATAGGTAATAAA
 GTTTTTTTCTATGATTATGAACAAGTTTCCTTATAATTTTCAAA
 AAAAAATAAAAAATATGGTTGAATTTAGATTTATCTTCTTTATATTAAAAAATGTAATCCGGATTGCAA
 | Sublancin leader -----> Xho I
 ACAAATGGGGAGGTTTACAA ATGGAAAAGCTATTTAAAGAAGTTAAACTCGAGGAACTCGAAAACCAA
 | Sun A ----->
 AAGGTAGT GGATTAGGAAAAGCTCAGTGTGCTGCGTTGTGGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGG
 Pst I |
 TTGTGGTGGCGGAGCTGTTGCTTGTCAAACTATCGTCAATTCTGCAGA TAAACATTTGTAGAGGGAAT
 ATTTTAAATATTCCTCATATTTAAAGCGGGGATTGAAATTGAATAAGAAAAAGAAATATGTTCACTA
 AACAGTTTAATAGTCATGATTGTGGACTAGCTTGTATCTCGTCAATTTTAAAGTTTCATAACCTTAAC
 TGGAATTGATTTCTTACTAGACCTAATTGGGGATAAGGAAGGCTATAGTTTAAAGAGACTTAATTGTTATT
 TTTAAGAAGATGGGGATAAAAACTAGGCCACTTGAATTGCAAGAAAATAAGACATTTCGAAGCCCTAAAC
 AAATAAGCTCCCTTGTATAGCTTTGTTAGAAGGGGAGGAATATGGACATTACATAACAATATACGAAAT
 TAGAAATAACTATTTACTTGTAGTGATCCTGATAAAGACAAAATAACTAAAAATAAAAAAGAGGATTTT
 GAAAGTAAATTCACAACTTTATATTAGAAATTGACAAAGAGTCAATTCCTGAAAAAGAAAAAGATCAAA
 AAAACATTCTTACTTTTTTAAGGACATACTTTTTAGAAATAAATTGATCGTTTTTGTGATTTTATTGAC
 TTCCTTGTTCGTTGTGGGTCTTGCTGAAGCTT----->pTZ sequence
 HindIII

Figure 4

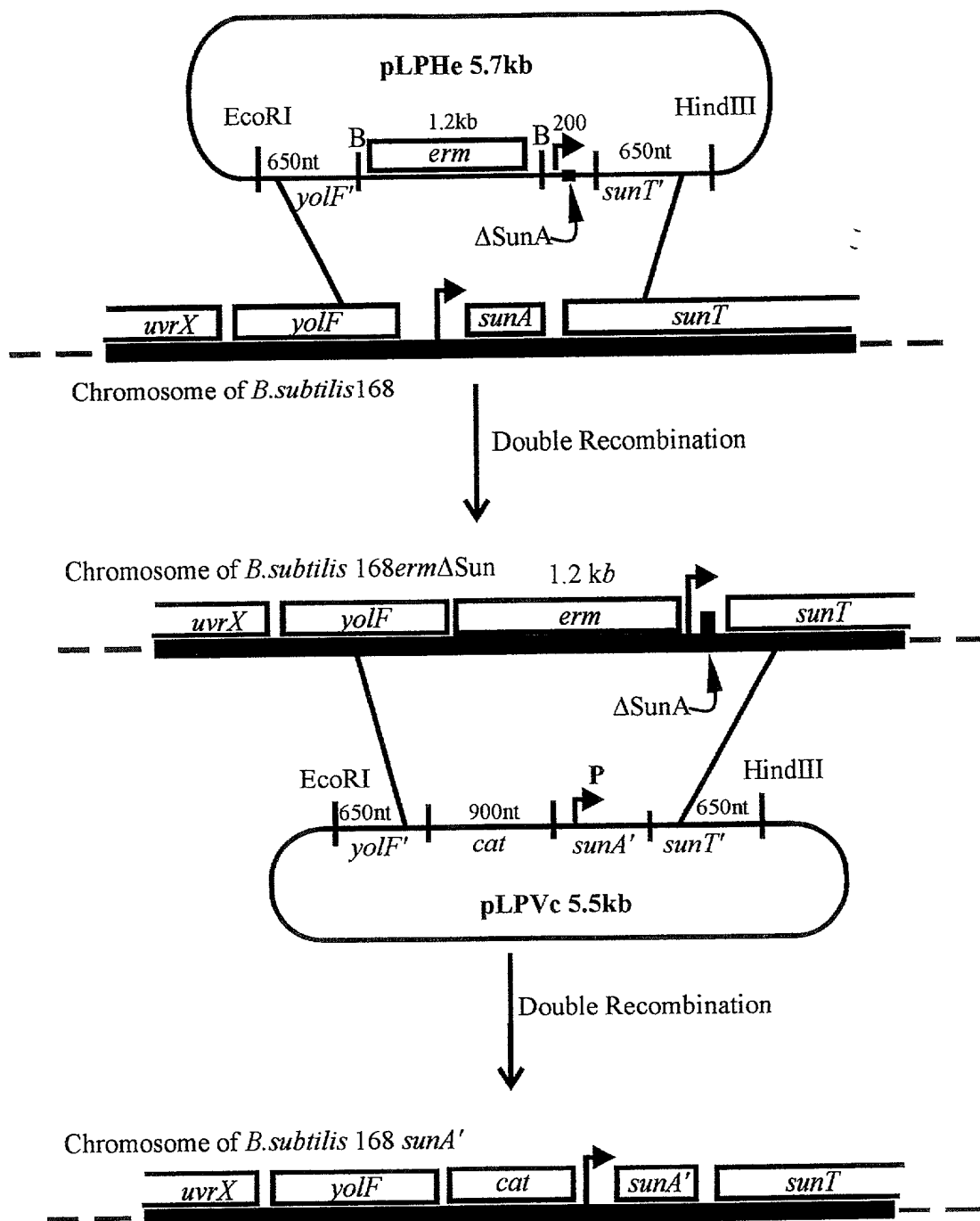
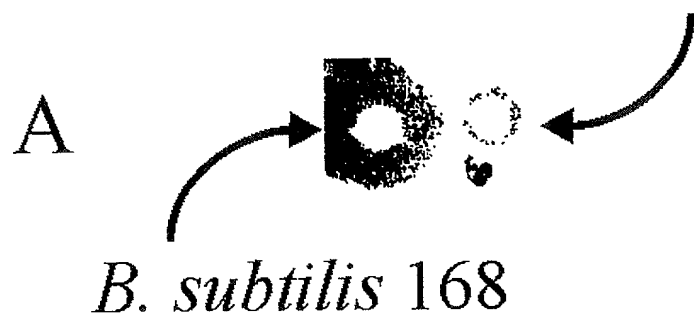


Figure 5

B. subtilis E Δ Sun



B



B. subtilis 168 SunA'

Figure 6

pLPcat

TGCAAACAATGGGGAGGTTTTACAA

XhoI

TTAAACTCGAGGA⁻CTCGAAAACCAAAAAGGTAGT

AllLysLeuGluGluLeuGluAsnGluLysGlySer

tide→

TCAGTGCTGC GTTGTGGCTACAATGTGCTAGTGGCGGTACAATTGGTT
aGlnCysAlaAlaLeuTrpLeuGlnCysAlaSerglyglyThrileglyc-

KasI

G TGGTGGCGGCCGCCGTTGCTTGTCAAAACTATCGTCAATTCTGTAGAGGT
ysGlyGlyGlyAlaValAlaCysGlnAsnTyrArgGlnPheCysArgGly

glycine20→

BseRI

GGTGGTGGGGGAGGCGGGGAGGGGGTGGTGGTGGAGGAGGTGGTGGTGG
GlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGlyGly

subtilin leader→

XbaI

TGGTGGTATGTCAAAGTTCGATGATTTTCGATCTAGATGTTGTGAAAGTCT
yGlyGlyMetSerLysPheASPaspPheASPleuASPvalVallysVals

Stop PstI

CTAAACAAGACTCAAAAATCACTCCGCAATAGAGTCCTGCAGATAAACAA
erLysGlnASPserlysilethrProGln *

pLPcat →

Figure 7

